

|               |  |
|---------------|--|
| Title         | Downregulation of the tumor suppressor Cbp/Pag1 is mediated by epigenetic histone modifications via the MAPK/PI3K pathway  |
| Author(s)     | 鈴木, 慶  |
| Citation      |  |
| Issue Date    |  |
| oaire:version |  |
| URL           | <a href="https://hdl.handle.net/11094/59455">https://hdl.handle.net/11094/59455</a>  |
| rights        |  |
| Note          | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照</a> ください。 |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

|               |   |
|---------------|---|
| 氏 名           | すずき 木 慶   |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士（理学）   |
| 学 位 記 番 号     | 第 2 4 8 3 5 号   |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平成 23 年 6 月 14 日  |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第1項該当<br>理学研究科生物科学専攻   |
| 学 位 論 文 名     | Downregulation of the tumor suppressor Cbp/Pag1 is mediated by epigenetic histone modifications via the MAPK/PI3K pathway<br>(がん抑制遺伝子産物 Cbp/Pag1 の発現抑制は MAPK/PI3K 経路を介したエピジェネティックなヒストン修飾により調節される) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 岡田 雅人<br>(副査)<br>教 授 田嶋 正二 教 授 三木 裕明  |

論 文 内 容 の 要 旨

非受容体型チロシンキナーゼである Src family tyrosine kinases (SFKs) は、様々な細胞応答を制御する重要なシグナル分子であるが、その恒常的な活性化は細胞のがん化を引き起こすことが知られている。正常細胞では、SFKs は足場タンパク質の Cbp を介して SFKs の負の制御因子 Csk によりリン酸化されて不活性化型として存在している。先行研究から、Cbp は SFKs のメンバーである c-Src の活性化にともない mRNA の発現が減少することやがんで c-Src の活性と発現の上昇にともない発現が減少することが明らかにされた。本研究では、c-Src による Cbp の発現抑制機構を明らかにするとともに、がんとの関連を明らかにすることを目的に研究を行った。

Cbp の発現減少に関わる経路を明らかにするために、マウス繊維芽細胞に活性化型変異体を導入し、Cbp の発現への影響を調べたところ、Ras、MEK、Akt の活性化型変異体により Cbp の発現が減少することから、c-Src と Ras の下流の MAPK 経路と PI3K 経路の両経路を介して Cbp の発現が抑制されることが示唆された。次に、mRNA の発現が減少する原因を明らかにするために、Csk を欠損したマウス繊維芽細胞に Csk を発現させた細胞と c-Src を発現させた細胞を用いて、Cbp の mRNA の安定性とプロモーターの転写活性、エピジェネティックな発現抑制の寄与について調べた。mRNA の安定性とプロモーターの転写活性は細胞間で差は認められなかったが、エピジェネティックな発現抑制の寄与について解析したところ、c-Src を発現させた細胞では Csk を発現させた細胞に比べ、cbp 遺伝子の転写開始点近傍のヒストン H4 のアセチル化が減少し、ヒストン H3 の 27 番目のリジンのトリメチル化が亢進していることが明らかになった。以上のことから、c-Src の下流では、MAPK 経路と PI3K 経路の両経路を介して、cbp 遺伝子の転写開始点近傍のヒストン H4 のアセチル化が減少し、ヒストン H3 の 27 番目のリジンのトリメチル化が亢進することで、クロマチン構造が変化し、Cbp の mRNA の転写が抑制されていることが示唆された。さらに、増殖因子などの細胞外からの刺激でも Cbp の発現が減少するのかわ調べたところ、EGF でも同様の経路を介して発現が減少することが明らかになった。

最後に、がんでも同様の機構を介して Cbp の発現が抑制されているのかわを明らかにするために、大腸がん細胞 HT29、肺がん細胞 A549、乳がん細胞 MCF7 を用いて解析を行った。その結果、HT29 と A549 で Cbp の発現減少における MAPK 経路の寄与が示唆された。また、HT29 ではヒストンの脱アセチル化で、A549 と MCF7

ではヒストンの脱アセチル化と DNA のメチル化の両方の機構で発現が抑制されていることが示唆された。以上の結果から、MAPK 経路を介した、ヒストンの脱アセチル化による Cbp の発現抑制は、がんで見られる Cbp の発現の減少においても重要な働きをしていることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

非受容体型チロシンキナーゼである Src family tyrosine kinases (SFKs) は、様々な細胞応答を制御する重要なシグナル分子であるが、その恒常的な活性化は細胞のがん化を引き起こすことが知られている。正常細胞では、SFKs は足場タンパク質の Cbp を介して SFKs の負の制御因子 Csk によりリン酸化されて不活性化型として存在している。先行研究から、Cbp は SFKs のメンバーである c-Src の活性化にともない mRNA の発現が減少することやがんで c-Src の活性と発現の上昇にともない発現が減少することが明らかにされた。本研究では、c-Src による Cbp の発現抑制機構を明らかにするとともに、がんとの関連を明らかにすることを目的に研究を行った。

Cbp の発現減少に関わる経路を明らかにするために、マウス繊維芽細胞に活性化型変異体を導入し、Cbp の発現への影響を調べたところ、Ras、MEK、Akt の活性化型変異体により Cbp の発現が減少することから、c-Src と Ras の下流の MAPK 経路と PI3K 経路の両経路を介して Cbp の発現が抑制されることが示唆された。次に、mRNA の発現が減少する原因を明らかにするために、Csk を欠損したマウス繊維芽細胞に Csk を発現させた細胞と c-Src を発現させた細胞を用いて、Cbp の mRNA の安定性とプロモーターの転写活性、エピジェネティックな発現抑制の寄与について調べた。mRNA の安定性とプロモーターの転写活性は細胞間で差は認められなかったが、エピジェネティックな発現抑制の寄与について解析したところ、c-Src を発現させた細胞では Csk を発現させた細胞に比べ、cbp 遺伝子の転写開始点近傍のヒストン H4 のアセチル化が減少し、ヒストン H3 の 27 番目のリジンのトリメチル化が亢進していることが明らかになった。以上のことから、c-Src の下流では、MAPK 経路と PI3K 経路の両経路を介して、cbp 遺伝子の転写開始点近傍のヒストン H4 のアセチル化が減少し、ヒストン H3 の 27 番目のリジンのトリメチル化が亢進することで、クロマチン構造が変化し、Cbp の mRNA の転写が抑制されていることが示唆された。さらに、増殖因子などの細胞外からの刺激でも Cbp の発現が減少するのかわ調べたところ、EGF でも同様の経路を介して発現が減少することが明らかになった。さらに、がんでも同様の機構を介して Cbp の発現が抑制されているのかわを明らかにするために、大腸がん細胞 HT29、肺がん細胞 A549、乳がん細胞 MCF7 を用いて解析を行った。その結果、HT29 と A549 で Cbp の発現減少における MAPK 経路の寄与が示唆された。また、HT29 ではヒストンの脱アセチル化で、A549 と MCF7 ではヒストンの脱アセチル化と DNA のメチル化の両方の機構で発現が抑制されていることが示唆された。以上の結果から、MAPK 経路を介した、ヒストンの脱アセチル化による Cbp の発現抑制は、がんで見られる Cbp の発現の減少においても重要な働きをしていることが示唆された。以上の知見は、がんにおけるがん抑制遺伝子の発現抑制に関わる新たな分子機構を提唱するものであり、よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。